

RITSCHER & PARTNER AG
INTELLECTUAL PROPERTY

101574227

Zollikerstrasse 19
Postfach 372
CH-8029 Zürich
www.ritscher.net

Fon: +41 (0)1 395 44 88
Fax: +41 (0)1 395 44 84
email: info@ritscher.net

IAF20133100000 31. MAR 2006

Dr. Thomas Ritscher, Dipl. Chem.*
Dr. Klaus Hinkelmann, Dipl. Chem.*
Dr. André Kasche, Dipl. Biochem.*
Dr. Matthias Stolz, Dipl. Chem.*
Friedrich Scheele, Dipl. Ing.*
Jan Ungermann, Dipl. Phys.

An das
Europäische Patentamt,
D-80298 München

*European Patent Attorney

Zürich, den 6. April 2005

Ihr Zeichen: PCT/CH2004/00610
Titel: "Verfahren zur *in vitro* Evolution von Polypeptiden"
Anmelder: ETH Zürich
Erfinder: Julian Bertschinger & Christian Heinis
Unser Zeichen: RP50005 PCT

Auf den schriftlichen Bescheid der internationalen Recherchenbehörde:

I Erfinderische Tätigkeit

Die internationale Recherchenbehörde verneint eine erfinderische Tätigkeit für die Gegenstände der Ansprüche 1 bis 19 im Hinblick auf die Dokumente D1 bis D4.

Die Dokumente D1 bis D3 werden bereits in der Beschreibung auf den Seiten 5 bis 7 gewürdigt.

D1 (Sepp et al.)

Als vermeintlicher nächstliegender Stand der Technik offenbart D1 ein Verfahren zur Kopplung von Geno- und Phänotyp mittels Microbeads

basierend auf der Verbindung von Streptavidin-*Polypeptid*-Konjugaten und der das Polypeptid kodierenden biotinylierten *DNA* über Straptavidin- und Biotin-konjugierte Microbeads zusammen mit einem Trankriptions-/Translations-Mix in einer Emulsion (Abstract). Der besondere Vorteil der Microbeadtechnologie von D1 besteht in der gemeinsamen Auswahl von *DNA*- und Polypeptid-Microbeads mittels Flusscytometrie (siehe z.B. Überschrift, Abstract, Diskussion).

Die Behauptung des Prüfers, dass die der vorliegenden Erfindung zugrunde liegende Aufgabe lediglich in der Bereitstellung eines zu D1 alternativen Verfahrens besteht, kann nur aus einer rückschauenden Betrachtungsweise erfolgt sein. Diesbezüglich wird auch darauf hingewiesen, dass der Prüfer das für die Lehre von D1 wesentliche Merkmal der Microbeads vollständig unberücksichtigt lässt.

Da die internationale Recherche am EPA als Recherchenamt durchgeführt wurde, werden die Einwände des Prüfers im Folgenden im Rahmen der europäischen Rechtsprechung behandelt.

Einleitend wird festgestellt, dass ein *ex post facto* Ansatz, der das Wissen um die Erfindung heranzieht, grundsätzlich unzulässig ist (Prüfungsrichtlinien am EPA, Abschnitt C-IV, 9.9). Ein solcher Ansatz ist insbesondere bei solchen Erfindungen zu vermeiden, bei denen die vorgeschlagene Lösung vorgeblich „einfach“ ist. Laut Prüfer besteht die Lösung der Erfindung lediglich in dem Austausch der nicht-kovalenten Bindung von D1 mit einer kovalenten Bindung von D3.

Üblicherweise vermeidet eine korrekte Anwendung des „problem and solution approach“ eine rückschauende Analyse.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist das zur Verfügung stellen eines

Verfahrens, bei dem die Anzahl der Peptide pro DNA-Molekül gesteuert, d.h. definiert werden kann, z.B. um Aviditätseffekte zu vermeiden. Das Verfahren sollte zudem schneller, kostengünstiger und effizienter als bereits bekannte Verfahren sein und die Verbindung zwischen Geno- und Phänotyp sollte robust genug sein, um Auswahlverfahren auch unter harschen Randbedingungen durchzuführen. Somit sollte die Lösung nicht nur in einem reinen Alternativverfahren zu dem von D1 bestehen, sondern tatsächlich Vorteile diesem gegenüber aufweisen.

Diese Aufgabe(n) wird(werden) mit dem Verfahren nach Anspruch 1 gelöst:

Ein Verfahren zur Herstellung und Zuordnung von Nukleinsäuren und der dadurch kodierten Polypeptide, das folgende Schritte umfasst:

- a) die Kompartimentierung von Nukleinsäuren zusammen mit einer *in vitro* Transkriptions-Translations-Mischung in einer Wasser-in-Öl-Emulsion,
- b) die *in vitro* Expression der durch die Nukleinsäuren kodierten Fusionspolypeptide in den Mikrokompartimenten der Wasser-in-Öl-Emulsion, wobei jede Nukleinsäure an das Fusionspolypeptid gebunden wird, für das es kodiert,

wobei die Fusionspolypeptide jeweils mindestens einen konstanten Peptidanteil I und mindestens einen variablen Peptidanteil II umfassen und die Fusionspolypeptide über den Peptidanteil I mit der das Fusionspolypeptid kodierenden Nukleinsäure in Schritt b) kovalent verbunden werden, und wobei die Anzahl der derart gebundenen Fusionspolypeptide pro Nukleinsäure eine definierbare ganze Zahl ist.

Da D1 eine direkte kovalente Bindung von DNA mit dem durch die DNA-kodierten Polypeptid weder vorschlägt noch in irgendeiner Weise motiviert, beruht der Gegenstand von Anspruch 1 auf einer erfinderischen Tätigkeit.

Natürlich hätte der Fachmann das Verfahren von D1 dahingehend abwandeln können, Streptavidin-/Biotin-Microbeads wegzulassen und stattdessen Protein und DNA direkt kovalent verbinden können.

Jedoch wird in der europäischen Patentrechtsprechung zu Recht davon ausgegangen, dass der Fachmann auf dem Gebiet der Erfindung nicht aus reiner Neugier, sondern nur aufgrund einer technisch motivierten Orientierung handelt (T 939/92).

Daher ist der Punkt nicht, ob der Fachmann die Erfindung durch Abwandlung des Standes der Technik hätte machen können, sondern ob er dies auf Grund einer konkreten Anregung aus dem Stand der Technik auch tatsächlich getan hätte. (T 455/87, T 414/98).

Es ist jedoch höchst unwahrscheinlich, dass der Fachmann D1 überhaupt zur Lösung der gestellten Aufgabe heranziehen würde. D1 ist eindeutig auf die Bindungs-orientierte Auswahl von Microbeads z.B. durch Flusscytometrie gerichtet. Microbeads sind daher ein wesentlicher Bestandteil der Lehre von D1, den der Fachmann nicht von sich aus ignorieren würde (siehe Überschrift, Abstract, Diskussion).

Gemäß der EPA Entscheidung T 870/96 würde der Fachmann aber nur solche technische Lehren als nächstliegenden Stand der Technik auswählen, die für ihn eine „Brückenkopfposition“ darstellen, von der der Fachmann aus in realistischer Weise die Erfindung unter den gegebenen Umständen hätte machen können. Da die Lehre von D1 aber wesentlich auf Mikrobeads basiert, hätte der Fachmann D1 nicht als realistischen Ausgangspunkt zur Lösung der gestellten Aufgabe herangezogen, da Microbeads wegen der eher zufälligen Verteilung der Bindungsstellen inhärent zu einer zahlenmäßig undefinierten heterogenen Bindung der Bindungspartner neigen, die der gewünschten Lösung entgegensteht. Zudem entnimmt der Fachmann D1 grundsätzlich eher

ein Hemmnis, was das Weglassen von Streptavidin-/Biotin-Microbeads angeht.

Zusammenfassend bleibt somit bezüglich der Lehre von D1 festzustellen, dass der Fachmann von der Lehre nicht-kovalent gebundener Microbeads nicht abweichen würde und daher auch nicht zur Erfindung ohne erfinderische Einsicht hätte gelangen können. Somit nimmt die Lehre von D1 weder den Gegenstand von Anspruch 1 in offensichtlicher Weise vorweg noch stellt D1 einen nächstliegenden Stand der Technik dar, den der Fachmann realistischer Weise in Betracht ziehen würde.

Kombination von D1 und D3 (WO 98/37186)

Der Prüfer vertritt die Auffassung, dass der Fachmann die Lehren von D1 und D3 kombinieren würde, um zu dem Gegenstand des Anspruchs 1 zu gelangen.

D3 offenbart ein Verfahren zur Herstellung einer Proteinexpressionsbibliothek, bei dem die Proteine kovalent mit der sie kodierenden DNA verbunden sind. Die in D3 verwendeten Proteinkonjugate kodieren für einen Protein-DNA-bindenden Bereich (Protein A des P2 Phagen; P2A) und einen Displaybereich (Das zu untersuchende Protein).

D3 beschreibt keinerlei *in vitro* Kompartimentierung (lediglich räumliche Nähe durch Beads) während der Proteinexpression bzw. Protein-DNA-Bindung. Genauer gesagt ist es gemäß D3, S. 4, 2. Absatz ab dem 2. Satz sogar der besondere Vorteil des Verfahrens von D3, dass diese Derivate frei in Lösung vorliegen:

„This then obviates the use of cellular genetic packages with their inherent limitations during construction and screening of the expressed library. This advance allows for rapid screening for desired peptides or proteins with cycles of selection, DNA amplification and expression.

Die Aufgabe von D3 ist somit die Vermeidung von Kompartimenten bereits bei der Herstellung für den erleichterten Zugang zu den Konjugaten während der Screeningverfahren.

Seite 25, zweiter Absatz offenbart:

The generation of the library expressing the display peptide may be performed in vivo by growing transformed cells or organisms.”

In vitro, coupled transcription/translation may be performed in cell-free extracts.” (3. Absatz)

Beispiel 1, Seite 45, Abschnitt 4. offenbart zudem die Bindung der Ziel-DNA an z.B. einen Beadträger über das Streptavidin-Biotin-System und Abschnitt 5 lehrt anschließend die Bindung der Proteine an die Bead-gebundene Ziel-DNA. Nach Aufreinigung wird das DNA-Protein-Konjugat von den Beads freigesetzt.

Somit ist D3 eindeutig zu entnehmen, dass D3 zwar die kovalente Bindung von DNA an dadurch kodiertes Protein *in vitro* offenbart, aber auch, dass Beads zu notwendigen Zuordnung unverzichtbar sind. Andere *in vitro* Verfahren werden nicht offenbart.

Zwar hätte der Fachmann sowohl bei dem Verfahren von D3 wie auch D1 die Beads zur Zuordnung von DNA und Protein weglassen können, er entnimmt allerdings diesbezüglich keinerlei Anregung bzw. Motivation. Tatsache bleibt, dass D1 und D3 beide Beads für *in vitro* Verfahren zur räumlichen Zuordnung von Protein und DNA für unverzichtbar halten.

Da der Fachmann beiden Dokumenten keinerlei Veranlassung oder Motivation zur kovalenten Bindung von DNA und Protein in Mikrokompartimenten bzw. ohne Bead-Unterstützung entnehmen kann, ist das Verfahren von Anspruch 1

auch nicht durch die rückschauende Kombination dieser beiden Dokumente nahegelegt.

Dass sich die Kombination von D1 und D3 lediglich bei rückschauender Betrachtungsweise ergibt, ist schon dadurch gegeben, dass der Fachmann weder D1 noch D3 eine Anregung zur Kombination beider Dokumente entnehmen kann.

Es bleibt somit festzustellen, dass der Gegenstand von Anspruch 1 auf einer erfinderischen Tätigkeit im Lichte von D1 und D3 beruht. Die Patentierbarkeit der von Anspruch 1 abhängigen Ansprüche 2 bis 19 wird von den Merkmalen des unabhängigen Anspruchs 1 mitgetragen. Eine Stellungnahme zu den Argumenten des Prüfers in Abschnitt 2.2 ist somit nicht notwendig.

II Klarheit

Der Prüfer bemängelt konkret den Ausdruck

„und wobei die Anzahl der derart gebundenen Fusionspolypeptide pro Nukleinsäure eine definierbare ganze Zahl ist.“

als unklar.

Der beanstandete Begriff ist auf Seite 10, Absatz 3 dahingehend näher erläutert, dass

„die Anzahl von Erkennungssequenzen für Nukleinsäure-bindende Proteine darin (Nukleinsäure) die genaue Anzahl der daran bindenden Fusionspolypeptide definiert, d.h. vorgibt.“

Mit anderen Worten, die Nukleinsäurestruktur gibt die Anzahl der gebundenen Polypeptide vor, die somit in einer definierbaren ganzen Zahl an die Nukleinsäure gebunden werden. Der Wortlaut geht nicht über eine

1057000, 1000000, 1000000, 1000000

definierbare zahlenmäßige Beziehung zwischen Nukleotid und Polypeptid hinaus. Die kovalente Bindung gemäß der Erfindung ist also weder zufällig, noch unterscheidet sie sich von Molekül zu Molekül.

Es wird betont, dass die Voraussetzung der Klarheit nicht verlangt, dass ein bestimmter Wortlaut gewählt wird, sondern lediglich, dass der Wortlaut klar ist. Daher wird der zuständige Prüfer höflichst dazu aufgefordert, den derzeitigen Wortlaut im Rahmen der Beschreibung noch einmal zu überdenken und ggf. mitzuteilen, welche(s) Wort(e) in dem Begriff für den Fachmann denn unklar sein könnte(n).

Das oben gesagte gilt analog für Anspruch 19.

Der Prüfer bemängelt des Weiteren den Ausdruck „vorzugsweise“ in Anspruch 9 als nicht einschränkend. Dieser Ausdruck ist vor dem EPA zulässig und wird somit bis zur Regionalisierung/Nationalisierung der PCT-Anmeldung beibehalten.

III Antrag

Auf Grund der oben aufgeführten Argumente, die die Einwände des schriftlichen Bescheids in vollem Umfang ausräumen, wird die Gewährung eines insgesamt positiven Internationalen Prüfungsberichts beantragt.


Dr. Thomas Ritscher